

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ALELOPÁTICO E INIBIDOR DE  
TIROSINASE DE BARU (*Dipteryx alata* Vogel)

Autor: Mariana Dalila Oliveira Silvério  
Orientador: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro

Rio Verde - GO  
Fevereiro – 2012

POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ALELOPÁTICO E INIBIDOR DE  
TIROSINASE DE BARU (*Dipteryx alata* Vogel)

Autor: Mariana Dalila Oliveira Silvério  
Orientador: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - campus Rio Verde - Área de concentração Ciências Agrárias.

Rio Verde - GO  
Fevereiro - 2012

S59p

SILVÉRIO, Mariana Dalila Oliveira.

Potencial antioxidante, alelopatia e inibidor de tirosinase de Baru (*Dipteryx alata* Vogel) / Mariana Dalila Oliveira Silvério – Rio Verde- GO – 2012.

49f.: il.;

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde - 2012.

1. *Dipteryx alata* Vogel 2. Dpph 3. Hiperpigmentação 4. Tirosinase  
Gilmar José Terra. CRB1 2524

CDU 633.85

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ALELOPÁTICO E INIBIDOR DE  
TIROSINASE DE BARU (*Dipteryx alata* Vogel)

Autora: Mariana Dalila Oliveira Silvério  
Orientador: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro

*TITULAÇÃO*: Mestre em Ciências Agrárias – Área de concentração  
Ciências Agrárias - Ciências Agrárias

APROVADA: 15/02/2012

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Alves Arruda  
*Avaliadora externa*  
UCDB/MS

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Rodrigues Donadon  
*Avaliadora interna*  
IF Goiano/ RV

Prof. Dr. Carlos Frederico de Souza Castro  
*Presidente da banca*  
IF Goiano/ RV

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois através dEle e de sua infinita misericórdia, meu mestrado tornou-se possível. Agradeço também a meu orientador, Carlos Frederico, com sua enorme paciência, me ensinou o que precisava pra que eu me tornasse mestre. Aos professores que me auxiliaram, a CAPES que me concedeu uma bolsa de estudos, importantíssima para a realização do curso. Ao meu amigo Aildo, que me ajudou muito com seu conhecimento. Ao meu esposo e à minha mãe, que sempre acreditaram na minha vitória... Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa grande conquista! Muito obrigada!

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Mariana Dalila Oliveira Silvério, filha de Domingos Augusto Silvério e Cleusa Lopes de Oliveira, nascida em 18 de fevereiro de 1984, na cidade de Rio Verde – Goiás.

Formada em Biomedicina pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Pós Graduada pela mesma Instituição em Citopatologia Ginecológica.

Aluna do curso de Pós Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Em 2012 iniciou o curso de Medicina na Universidade de Rio Verde – FESURV.

## ÍNDICE

	Página
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA .....	4
Cerrado .....	4
Gênero <i>Dipteryx</i> .....	6
Baru ( <i>Dipteryx alata</i> Vogel) .....	7
Radicais livres .....	9
Antioxidantes.....	10
Compostos fenólicos .....	11
Agentes despigmentantes .....	13
Melanina .....	13
Inibição da tirosinase .....	16
Alelopatia .....	17
Referências Bibliográficas.....	18
OBJETIVOS GERAIS .....	23
CAPÍTULO I: Baru como fonte potencial de fenóis, antioxidantes e inibidores de tirosinase .....	24
CAPÍTULO II: Atividade alelopática do extrato etanólico das folhas de baru.....	40
CONCLUSÃO GERAL .....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Área central de distribuição original do Cerrado.....	5
Figura 2 - Vegetação nativa remanescente na área central do Cerrado em 2002.....	5
Figura 3 - Barueiro .....	8
Figura 4 - Semente de baru.....	8
Figura 5 - Biossíntese de melanina.....	15
Figura 1 - Porcentagem de germinação de repolho em relação ao tempo.....	44
Figura 2 - Porcentagem de germinação de alface em relação ao tempo.....	44
Figura 3 - Porcentagem de germinação de tomate em relação ao tempo .....	45



## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Teor de Fenóis Totais expressos em equivalentes de Ácido Gálico (EAG) .....	32
Tabela 2 - Atividade Antioxidante dos Extratos Etanólico e Hexânico .....	32
Tabela 3 - Percentação de ativação/inibição da enzima tirosinase .....	33
Tabela 4 - Picos máximos de absorção antes e após a adição da solução de Cobre.....	35
Tabela 1 - Índice de velocidade de germinação (IVG) .....	45

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Sigla	Significado	Unidade
	Mililitros	mL
	Microlitros	$\mu\text{L}$
	Nanômetros	nm
	Partes por milhão	ppm
	Equivalentes de ácido gálico por grama	$\text{EAG.g}^{-1}$
	Miligramas	mg
	Gramas	g
	Micrômetro	$\mu\text{m}$
EE	Extrato Etanólico	
EH	Extrato Hexânico	
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil	
IVG	Índice de Velocidade de Germinação	
FT	Fenóis Totais	
CE50	Concentração Efetiva 50	
$\text{CuSO}_4$	Sulfato de Cobre	
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético	
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	Carbonato de sódio	
DOPA	Dioxifenilalanina	

## RESUMO

O cerrado brasileiro constitui umas das mais ricas savanas do mundo. Apesar dessa grande biodiversidade a pesquisa em plantas medicinais precisa ser incentivada. Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao mesmo. Além disto, as substâncias fenólicas são reconhecidamente detentoras de pronunciada atividade antioxidante, que muitas vezes estão envolvidas em tratamentos de problemas de pigmentação, que resultam em hiperpigmentações ou hipopigmentação cutâneas. Para o tratamento desses problemas de pigmentação vários produtos cosméticos e farmacêuticos são utilizados, porém, esses produtos não são totalmente eficazes ou seguros, o que explica a intensa pesquisa, que procura desvendar novos agentes despigmentantes, principalmente aqueles envolvidos na melanogênese, como a tirosinase. Devido ao fato de que algumas substâncias obtidas de plantas apresentam essa atividade, a flora brasileira constitui-se uma importante fonte de obtenção de novas substâncias. Assim, este trabalho foi realizado para avaliar os fenóis, a atividade antioxidante, a capacidade de quelação dos íons cobre e a capacidade de inibição da tirosinase do extrato das folhas da espécie *Dipteryx alata* Vogel. Os resultados de fenóis totais mostraram uma concentração de 112,3 mgEAG. g<sup>-1</sup> no extrato etanólico e 45 mg EAG.g<sup>-1</sup> no extrato hexânico. A capacidade antioxidante dos extratos indica que o extrato etanólico (CE50 = 52,9 ± 1,3 ppm), em comparação ao hexânico (CE50 = 169,1 ± 2,3 ppm), possui maior teor de compostos antioxidantes. Já a capacidade de quelação dos íons cobre mostrou que o extrato etanólico possui capacidade de quelação insignificante. No ensaio de inibição da tirosinase o extrato etanólico demonstrou uma percentagem de inibição da enzima de 42% após uma hora. O potencial alelopático do extrato das folhas de baru (*Dipteryx Alata* Vogel) também foi avaliado na germinação de *Brassica oleracea* cv. Coração de Boi (repolho), *Solanum lycopersicum* cv. Santa Cruz Kada (tomate), *Lactuca sativa* cv. verônica (alface). Os resultados obtidos mostram no teste de germinação, que existe um maior poder inibitório do extrato em relação às sementes de *Solanum lycopersicum*, que não conseguiram germinar, enquanto que nas sementes de *Brassica oleracea*, o extrato mostrou um menor poder de inibição, sendo que em relação à *Lactuca sativa* cv. Grand Rapids, as sementes apresentaram maior resistência. Quanto ao Índice de Velocidade de Germinação, os dados demonstraram

menor índice nas sementes de tomate e repolho e não apresentando significantes resultados em relação à alface.

Palavras-chave: baru, cerrado, tirosinase, melanina, alelopatia.

## ABSTRACT

The Brazilian cerrado is one of the richest savannas in the world. Despite this high biodiversity research in medicinal plants needs to be encouraged. In recent years, a substantial amount of evidence has shown the key role of free radicals and other oxidants such as largely responsible for aging and degenerative diseases associated with it. Furthermore, the phenolic substances are known to be holding pronounced antioxidant activity, which often are involved in the treatment of pigmentation problems, which result in skin hyperpigmentation or hypopigmentation. For the treatment of pigmentation problems various cosmetic and pharmaceutical products are used, however, these products are not fully effective or safe, which explains the intense research that seeks to uncover new depigmenting agents, especially those involved in melanogenesis such as tyrosinase. Due to the fact that some substances obtained from plants exhibit this activity, flora constitutes an important source for such new substances. Thus, the work was conducted to evaluate the phenolics content, antioxidant activity, the copper ion chelation ability and tyrosinase inhibitory effects of extracts from the leaves of the *Dipteryx alata* Vogel species. The results showed a total phenol concentration of 112.3 mgEAG. g<sup>-1</sup> in the ethanol extract and 45 mg EAG.g<sup>-1</sup> in hexane extract. The antioxidant activity of extracts indicates that the ethanol extract (EC50 = 52.9 ± 1.3 ppm), compared to hexane (EC50 = 169.1 ± 2.3 ppm), has a higher content of antioxidant compounds. Ethanolic extract displayed insignificant copper ions chelation ability. In tyrosinase inhibition test, the ethanolic extract showed an inhibition of 42% after one hour. The allelopathic potential of extract of the leaves Baru (*Dipteryx Alata* Vogel) was also evaluated on the germination of *Brassica oleracea* cv. Coração de Boi (cabbage), *Solanun lycopersicum* cv. Santa Cruz Kada (tomato), *Lactuta sativa* cv. verônica (lettuce). The results show the germination test, there is a greater inhibiting power of the seed extract of *Solanum lycopersicum*, which failed to germinate, while seeds of *Brassica oleracea* extract showed a lower power of inhibition, and in relation the *Lactuta sativa* cv. Grand Rapids, seeds showed higher resistance. As for the speed germination index, the data showed a lower rate in the seeds of tomatoes and cabbage and did not show significant results in relation to lettuce. Keywords: baru, savannah, tyrosinase, melanin, allelopathy.

## INTRODUÇÃO

Ocupando a posição de segundo maior e um dos mais diversos biomas do Brasil, o cerrado se distribui em cerca de 21% do território nacional e abriga aproximadamente 33% da diversidade biológica brasileira (AGUIAR et al, 2004). Porém, o tipo de exploração do solo na região Centro-Oeste, que converte grandes extensões de vegetação nativa em pastagens e monoculturas, fez com que o Cerrado se tornasse um dos biomas mais ameaçados do mundo (KLINK & MACHADO, 2005). As estimativas mostram que a área remanescente de vegetação nativa do Cerrado é de aproximadamente 46,74%, segundo imagens de satélite de 2002 (MMA 2007).

Tal modelo de ocupação gera uma grande preocupação principalmente pelo fato do Cerrado ser o bioma floristicamente mais rico do mundo (WALTER, 2006). Devido ao grande número de espécies, ao alto grau de endemismo e à intensa destruição de seus habitats, o Cerrado é considerado um *hotspot* mundial, ou seja, área prioritária de conservação da biodiversidade (MITTERMEIER et al, 2005).

Segundo Ribeiro & Walter (2008) “A vegetação do Cerrado é composta por um mosaico representado por formações florestais, savânicas e campestres”.

O cerrado sentido restrito pode ser subdividido em quatro subtipos fitofisionômicos, ou seja, cerrado denso, típico, ralo e rupestre. Os três primeiros são diferenciados pela densidade do estrato lenhoso, sendo esta crescente do cerrado ralo ao denso, enquanto o cerrado rupestre ocorre em solos rasos e com afloramentos rochosos, denominados de ambientes rupestres. Nesses ambientes a vegetação lenhosa se estabelece nas fendas e nos degraus formados entre as rochas onde há acúmulo de solo e microsítios para o estabelecimento das plantas (RIBEIRO & WALTER, 2008, p.172).

Das espécies nativas do cerrado, o baru (*Dipteryx Alata* Vogel) possui grande importância devido a sua elevada ocorrência e por participar do modelo de exploração praticado pelos pequenos produtores rurais, onde ocorre a preservação das plantas durante a abertura dos pastos (CORRÊAS et al, 2000). Trata-se de uma espécie com um cultivo muito promissor, pois pode ser usada para diversos fins, onde pode-se destacar o uso na alimentação, na indústria madeireira, na arquitetura paisagística e na recuperação de áreas degradadas. Tem grande importância durante a estação seca, pois é uma das poucas espécies que apresentam frutos com polpa carnosa, alimentando assim os animais nesta época (SANO et al, 2004).

O barueiro também possui importância medicinal. A Ichimaru Pharcos Inc. solicitou patente, em 2002, ao inibir a formação de melanina, a partir de extrato etanólico obtido do óleo da semente de baru (SANO et al, 2004). Podendo então o baru ser fonte de substâncias com potencial função medicinal, como por exemplo, as substâncias antioxidantes.

Diversos estudos, têm isolado em plantas medicinais, compostos com atividade antioxidante (COULADIS et al, 2002; BOUDET, 2007; RAZAVI et al, 2008; FONSECA et al, 2009; REBELO et al, 2009) e com certeza, os compostos fenólicos são as substâncias responsáveis por tal atividade.

Os compostos fenólicos são reconhecidamente detentores de grande atividade antioxidante, pois atuam como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais, despertando, assim, interesse face à possibilidade de serem utilizadas em várias doenças degenerativas, como envelhecimento prematuro, processos inflamatórios, cicatrização, câncer, entre outras (HASLAM, 1998). Essas substâncias podem também ser utilizadas no tratamento de problemas de pigmentação da pele, pois podem atuar inibindo a tirosinase, enzima chave na produção de melanina.

Para proteger a pele, o organismo produz a melanina, que é considerada um mecanismo de proteção primária que ocorre por meio da pigmentação da pele. A melanina é originada a partir da polimerização do aminoácido tirosina por intermédio da ação da tirosinase, a qual passa de aminoácido incolor a um pigmento castanho. As hiperpigmentações são, em geral, distúrbios caracterizados pelo aumento de melanina e outros pigmentantes na pele. Os principais desencadeadores são as radiações solares, os hormônios sexuais e agentes externos, fontes de radicais livres (SATO et al, 2007).

As principais substâncias utilizadas como agentes despigmentantes, ou seja, inibidoras da tirosinase são comumente compostos fenólicos, como exemplos temos a hidroquinona, o ácido kójico e o ácido ascórbico.

Os compostos fenólicos podem também atuar como aleloquímicos, que, segundo Ferreira (2005), “a alelopatia pode ser entendida como qualquer efeito causado, direta ou indiretamente por um organismo sobre outro, através da liberação de substâncias químicas no ecossistema, mas o termo tem sido mais relacionado a efeitos prejudiciais”.

O cerrado possui enorme diversidade de espécies de plantas, que podem apresentar substâncias com grande importância, por isso, o estudo de novos compostos naturais inibidores da enzima tirosinase que auxiliem o organismo no equilíbrio da melanina é de grande relevância, uma vez que os fármacos disponíveis no mercado são muito onerosos, e apresentam diversos efeitos colaterais.

Da mesma forma os herbicidas, inseticidas e nematicidas utilizados na agricultura como defensivos agrícolas, muitas vezes, são prejudiciais ao meio ambiente, sendo necessários novos estudos de aleloquímicos que possam substituir esses defensivos efetivamente.

Desta maneira a procura por novas fontes naturais dessas substâncias constitui uma iniciativa de interesse científico e econômico, sendo que a identificação destas fontes no cerrado brasileiro representa uma via de uso de maneira sustentável desse ecossistema.



## REVISÃO DE LITERATURA

### Cerrado

Cerrado é o nome regional dado às savanas brasileiras, que se distribuía por cerca de 85% do grande platô que ocupa o Brasil Central, e representava cerca de 1,5 a 2 milhões de km<sup>2</sup>, ou aproximadamente 20% da superfície do Brasil (Figura 1). Trata-se de uma das principais áreas de ecossistemas tropicais da Terra, sendo um dos centros prioritários para a preservação da biodiversidade do planeta (MACHADO et al, 2004).

Cerca de 55% da área original do Cerrado (Figura 2) - que corresponde a 880.000 km<sup>2</sup>, superior a área desmatada da Amazônia Brasileira - já foi desmatada ou transformada pela ação humana (MACHADO et al, 2004).

Em seu estado natural, o solo, sob vegetação nativa, apresenta características físicas adequadas ao desenvolvimento normal das plantas do cerrado (ANDREOLA et al, 2000). Porém, os solos dos cerrados têm sido diagnosticados como de baixa fertilidade natural para o desenvolvimento de novas culturas, apresentando interferência direta na disponibilidade de nutrientes para as plantas se desenvolverem e atingirem altas produtividades, o que não representa um obstáculo para o cultivo nas áreas agrícolas, pois a baixa fertilidade dos solos pode ser corrigida (KLINK & MACHADO, 2006).

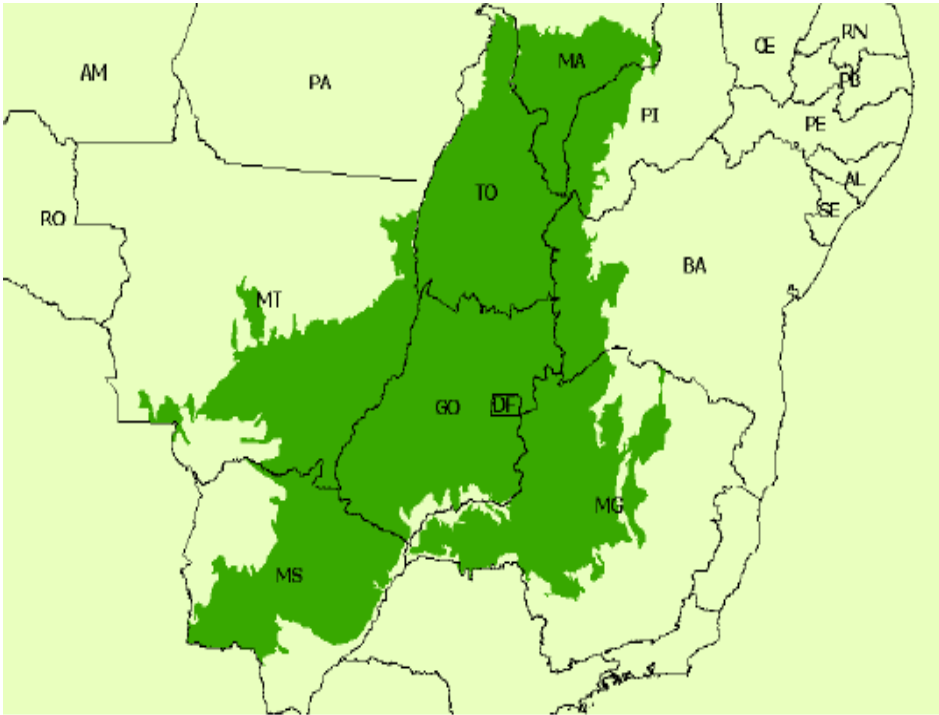


Figura 1 – Área central de distribuição original do Cerrado.  
Fonte: Machado et al, 2004.

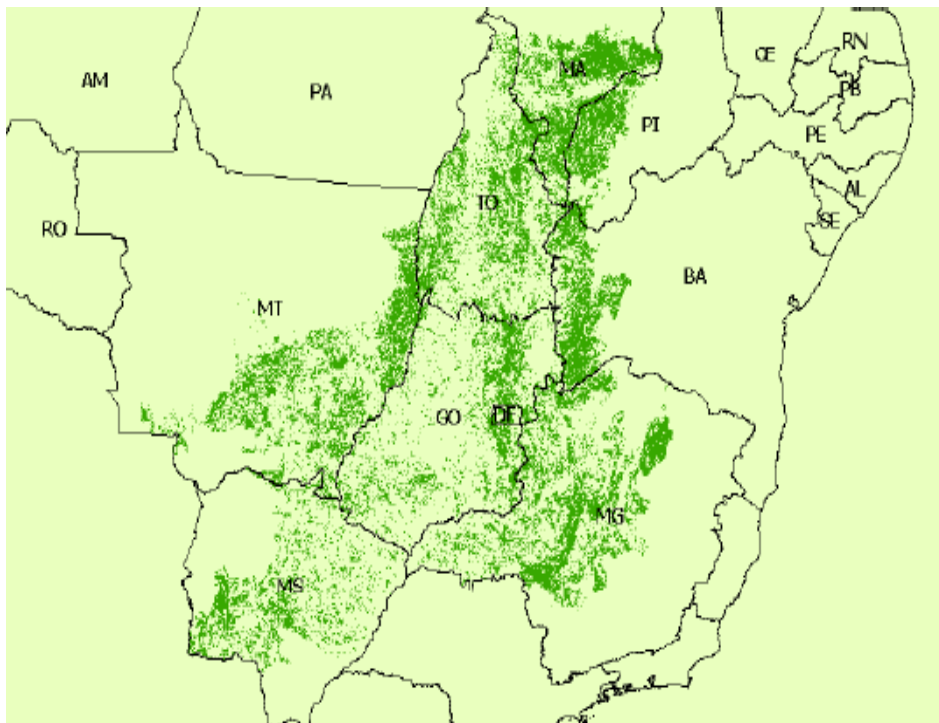


Figura 2 – Vegetação nativa remanescente na área central do Cerrado em 2002.  
Fonte: Machado et al, 2004.

Considerada uma das mais ricas savanas do mundo, a flora do cerrado possui cerca de 6.000 espécies vasculares (MENDONÇA et al, 1998). O clima típico da região dos cerrados é quente, semi-úmido e claramente sazonal, com verão chuvoso e inverno seco.

Sendo composta de dois grupos de espécies: árvores e arbustos de caules grossos e a camada rasteira, constituindo aproximadamente 300-450 espécies vasculares por hectare, perdendo apenas para a floresta tropical úmida. Fisionomicamente, o cerrado é constituído de um grande mosaico, que inclui formações florestais com dossel mais ou menos fechado (cerradão), contendo árvores de 12m de altura ou mais; cerrado *sensu stricto*, com um estrato arbóreo-arbustivo geralmente em torno de 6 ou 7 metros e um estrato rasteiro mais ou menos contínuo; campo cerrado apresentando uma vegetação com o estrato arbóreo-arbustivo mais aberto; campo sujo, com estrato herbáceo-graminoso dominante e arbustos ou pequenas árvores esparsos e campo limpo, com um único estrato, dominado por gramíneas (SILVA et al, 2002, p. 46).

Nos últimos vinte anos no Brasil, país com a maior diversidade vegetal do mundo, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido apenas 8% anualmente. O que mostra que em um país com ecossistemas tão ricos, porém tão ameaçados, pesquisas com plantas medicinais precisam ser incentivadas. Afinal, elas poderiam levar à reorganização das estruturas de uso dos recursos naturais (em vista da necessidade de sua extração estar associada aos planos de manejo) e à elevação do PIB, visto que há grande tendência mundial de aumento na utilização de fitoterápicos (GUARIM NETO et al, 2003).

## **Gênero *Dipteryx***

O gênero *Dipteryx*, pertencente à família Fabaceae, é constituído por 15 espécies que se destacam por serem utilizadas como plantas medicinais. São encontradas nas regiões amazônica, nordeste e central do Brasil. A espécie *D. odorata* é a mais estudada, suas sementes são ricas em cumarinas, importantes na indústria de cosméticos e perfumaria, é também um importante composto fenólico que inibe a germinação (FELIX et al, 2007), além de serem comercializadas para distúrbios vasculares e linfáticos (BESSA et al, 2001) e exibirem atividade farmacológica no sistema muscular (MENDES et al, 1994).

Estudos mostram que as cascas apresentam cumarinas, lupeol,  $\beta$ -farneseno, betulina e ésteres metílicos de ácidos graxos (NAKATO et al, 1970; NAKATO et al, 1979; HAYASHI, 1974) e o óleo essencial das flores é rico em germacreno D e espatulenol (ANDRADE et al, 2003). Em pesquisas realizadas com as sementes de *D. odorata*, isolou-se um novo

diterpenóide furanocassano, uma nova isoflavolignana e a chalcona isoliquiritigenina que exibem um alto potencial preventivo contra câncer em glândulas mamárias de ratos (JANG et al, 2003).

### **Baru (*Dipteryx alata* Vogel)**

O baru (*Dipteryx alata* Vogel), amplamente disseminado no Cerrado do Brasil Central, pertencente à família Fabaceae, é uma árvore frutífera (Figura 3), apresenta caule ereto e atinge até 15 m de altura. Segundo Almeida et al (1998), “sua madeira, de cor clara e pesada, com densidade de 1,10 g/cm<sup>3</sup>, presta-se para construção de estruturas externas, bem como para construções civil e naval”.

Os frutos de baru são produzidos de agosto a outubro, sendo que estes contêm uma semente marrom comestível, que é chamada de amêndoa, considerada uma oleaginosa. A amêndoa de baru contém altos níveis de lipídios (cerca de 40%) e proteínas (cerca de 30%) com boa digestibilidade e perfil de aminoácidos. Outrossim, a amêndoa de baru tem um alto teor de minerais, principalmente cálcio, ferro, magnésio, potássio e zinco (SOUSA et al, 2011).

O barueiro (*Dipteryx alata* Vogel) é uma das espécies nativas muito utilizadas pela população regional para complementar a renda familiar, através da exploração de seu fruto, o baru. A semente do baru (Figura 4), no Mato Grosso do Sul e em outros estados do Centro-Oeste é beneficiada e comercializada *in natura*, torrada ou sob a forma de farinha. Segundo Oliveira et al (2008), “no Brasil, uma tonelada de sementes não beneficiadas de baru valem aproximadamente 386 mil dólares (IPEF 2004), sendo muito valorizada no mercado consumidor externo”.



Figura 3 – Barueiro.  
Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 4 – Semente de baru.  
Fonte: Arquivo pessoal.

O baru é considerado uma das espécies frutíferas nativas mais promissoras para cultivo, devido ao seu uso múltiplo, alta taxa de germinação de sementes e de estabelecimento de mudas. Segundo Sano et al (2004), “em longo prazo, o uso do barueiro nas áreas a serem recuperadas como reservas legais e de proteção ambiental, margens de rios e córregos favorecerá a sua conservação e a manutenção de outras espécies associadas”.

Existe uma grande necessidade de novas pesquisas para ampliar o conhecimento das espécies do Cerrado, o que proporcionaria, conseqüentemente, a preservação do bioma, tanto na disponibilização de alternativas de renda pela utilização dos recursos naturais disponíveis, através do manejo econômico sustentável das áreas de Cerrado, quanto na demonstração dos benefícios nutricionais e medicinais do barueiro, o que justificaria o melhoramento genético das espécies e posteriores cultivos econômicos (VERA et al, 2009).

## **Radicais livres**

Os radicais livres de oxigênio (RLO) são produzidos naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos e, muitas vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico (como exemplo, os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio para destruir bactérias e outros elementos estranhos); na desintoxicação de drogas; e na produção do fator relaxante derivado do endotélio, o óxido nítrico, extremamente importante nos processos que desencadeiam o relaxamento dos vasos sanguíneos. Porém o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres, o que é chamado de estresse oxidativo (MONCADA & HIGGS, 2001).

Conforme Halliwell (1999), o oxigênio ( $O_2$ ) que respiramos é metabolizado em nosso organismo da seguinte maneira: aproximadamente 85 a 90% são utilizados pela mitocôndria, através da cadeia de transporte de elétrons, e os 10 a 15% restantes são utilizados por diversas enzimas oxidases e oxigenases e também por reações químicas de oxidação diretas. Os 2 a 5% restantes são reduzidos univalentemente em metabólitos denominados espécies reativas de oxigênio, onde os principais são o superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), a hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e a hidroperoxila ( $HO_2^{\cdot}$ ).

## Antioxidantes

Diversos estudos têm mostrado que os radicais livres e outros oxidantes tem importante papel no envelhecimento e nas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (ATOUI et al, 2005).

Segundo Atoui et al (2005), “de forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato”. E esses autores afirmam ainda que os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante.

Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: a dos com atividade enzimática e a dos sem essa atividade. Na primeira, estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas de oxigênio. Na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos (MOREIRA et al, 2004)

Conforme seu mecanismo de ação, os antioxidantes são classificados em: primários, sinergistas, biológicos, removedores de oxigênio, agentes quelantes e antioxidantes mistos (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes primários são, por exemplo, compostos fenólicos, atuam interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis ou reagem com radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que, por sua vez, pode reagir com outro radical livre. O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é sequestrado pelos radicais livres  $R^{\bullet}$  e  $ROO^{\bullet}$  com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim, formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical relativamente estável ( $A^{\bullet}$ ) procedente do antioxidante (BAILEY, 1996, p. 12).

Os sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles. Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem atuar sinergisticamente (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes biológicos são compostos por três tipos de enzimas. As enzimas superóxido dismutase (SOD), que atuam sobre o radical superóxido, transformando-o em peróxido de hidrogênio; as enzimas Glutathione peroxidase (dependente de selênio) e a Catalase, que atuam sobre o peróxido de hidrogênio, transformando-o em água (FELIPPE JUNIOR et al, 2004).

Dentre os antioxidantes biológicos, temos o hormônio melatonina, produzido pela glândula pineal; esta tem despertado um grande interesse público nesta última década, a partir da descoberta do papel da melatonina na regulação do sono e do ritmo biológico em humanos (GANDRA et al, 2004).

Os removedores de oxigênio, presentes no organismo em número e em concentração muito maior que os antioxidantes enzimáticos, são constituídos principalmente pelos antioxidantes de baixo peso molecular, que desativam diretamente os radicais livres. Os antioxidantes de baixo peso molecular podem ser sintetizados endogenamente ou advir da alimentação, por exemplo, temos o ácido ascórbico (GANDRA et al, 2004).

Os agentes quelantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica, como por exemplo, o ácido cítrico, onde um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonóides e derivados de ácido cinâmico (BAILEY, 1996).

Assim, os antioxidantes tem grande importância por prevenir a formação e a ação das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que se associam ao dano oxidativo (ANDRADE-WARTHA, 2007). Os antioxidantes possuem alta estabilidade oxidativa devido a sua estrutura molecular, o que proporciona a estes um papel fundamental na prevenção à oxidação de substâncias.

## **Compostos Fenólicos**



Segundo NACZK et al (2004), “compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros”.

Os compostos fenólicos são distribuídos nos vegetais de acordo com seu filo/ordem/família e apresentam também variações entre as espécies. Largamente distribuídos nos vegetais, os compostos fenólicos são um grupo bastante diversificado de compostos derivados de fenilalanina e tirosina. Os fenólicos, em plantas, são fundamentais no crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente antipatogênico e participarem na pigmentação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK et al, 2004).

Os fenólicos são definidos quimicamente como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI et al, 1995).

Alguns estudos epidemiológicos mostram que os compostos fenólicos, devido a sua ação antioxidante, podem estar associados à proteção contra doenças do envelhecimento. Segundo Birch et al (2001), “a formação de radicais livres pelo oxigênio é supostamente a chave para o desenvolvimento de câncer e doenças coronárias, aliado à função protetora da membrana celular. Radicais livres podem atacar biomoléculas, dentre as quais se destacam os lipídios, as proteínas ou DNA propriamente dito, os quais podem ser preservados pela ação dos antioxidantes”.

As frutas são importantes fontes de compostos fenólicos, principalmente as de coloração vermelha ou azul. Esses compostos apresentam vários efeitos biológicos, dos quais podemos citar: ações antioxidantes; antimicrobiana; antiplaquetária; efeitos antialérgicos; anti-inflamatória e vasodilatadora. Já para os vegetais, apresentam função de defesa, incluindo defesa contra fatores externos e internos (AHERNE & O'BRIEN, 2002).

Segundo Rauha et al (2000), “sob o ponto de vista nutricional, os compostos fenólicos são reconhecidamente agentes antioxidantes capazes de inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), além destes reduzem significativamente as tendências a doenças trombóticas”.

## **Agentes Despigmentantes**

Segundo Alves (2001), “os vegetais são fontes importantes de substâncias biologicamente ativas. A diversidade, em termos de estruturas e propriedades químicas, na qual essas substâncias ocorrem na natureza pode servir para o desenvolvimento de um grande número de fitofármacos”.

Há milhares de anos os seres humanos utilizam as plantas com finalidade terapêutica. Ao buscar alimentos para a sua sobrevivência, os seres humanos foram descobrindo as propriedades tóxicas ou curativas das plantas. Assim, ao longo dos anos, acumulou-se um conhecimento etnofarmacológico, que acabou por desenvolver fármacos muito importantes nos dias atuais. Conforme Alves (2001), “atualmente, metade dos 25 medicamentos mais vendidos no mundo tem sua origem em metabólitos secundários de origem vegetal”.

Um dos agentes despigmentantes de uso tópico mais usados hoje em dia, encontrado em vários alimentos, em madeiras, fumo de tabaco, alcatrão da hulha, óleo cru, é a hidroquinona, que possui ação imediata, pois inibe a atividade da tirosinase, porém, como efeito secundário, lentamente, induz modificações estruturais nas membranas das organelas dos melanócitos, o que acelera a degradação dos melanossomas (NICOLLETI et al, 2002).

O ácido Kójico, obtido a partir da fermentação do arroz, é utilizado no Japão desde 1989, como tratamento muito eficaz das hiperpigmentações, pois inibe a ação da tirosinase como quelante de íons e promove a diminuição da eumelanina (NICOLLETI et al, 2002).

A vitamina C, encontrada nas frutas cítricas, como a laranja e o limão, a acerola, o abacaxi, é usada, com frequência, como antioxidante de uso tópico. Essa vitamina reverte as reações de oxidação que convertem a DOPA em melanina, principalmente a conversão da DOPA em dopaquinona. Portanto, a melanina não pode ser formada por ação da tirosinase até que todo o ácido ascórbico seja oxidado (NICOLLETI et al, 2002).

## **Melanina**

Nos dias atuais, a aparência física tornou-se um aspecto muito importante. Segundo Sato et al (2007), “as manchas da pele, principalmente as faciais, não são estéticas e causam alguns transtornos que dificultam o bem-estar do indivíduo no âmbito psicossocial”.

A pele produz uma complexa mistura de enzimas para a proteção da exposição constante ao estresse oxidativo do meio ambiente (PODAHAIKY et al, 2002), mas em algumas situações, isso é insuficiente para evitar que os transtornos apareçam (MACRINI et al, 2009).

A melanina é apontada como um mecanismo de proteção primária do organismo por meio da pigmentação da pele. Ela é produzida nos melanócitos situados na camada basal da pele. O pigmento é originado a partir da polimerização do aminoácido tirosina por intermédio da ação da tirosinase, a qual passa de aminoácido incolor a um pigmento castanho (Figura 5). A tirosina polimerizada deposita-se em vesículas denominadas melanossomas, as quais se deslocam pelos prolongamentos citoplasmáticos dos melanócitos, sendo transferidos para os queratinócitos através de um processo de secreção, denominado secreção citócrina (de célula para célula). Os grânulos de melanina permanecem no citoplasma dos queratinócitos.

Durante a exposição solar, ocorre um aumento na produção de melanina, pois as várias camadas dos queratinócitos, junto com a melanina, é que dão uma maior defesa eficaz para os tecidos subjacentes da pele contra os efeitos nocivos dos raios solares, principalmente dos raios ultravioleta. Nesse processo são formados dois tipos de melanina; as eumelaninas, que são um grupo de pigmentos pardos, e as feomelaninas que são pigmentos pardos avermelhados (EVELINE, 2006).

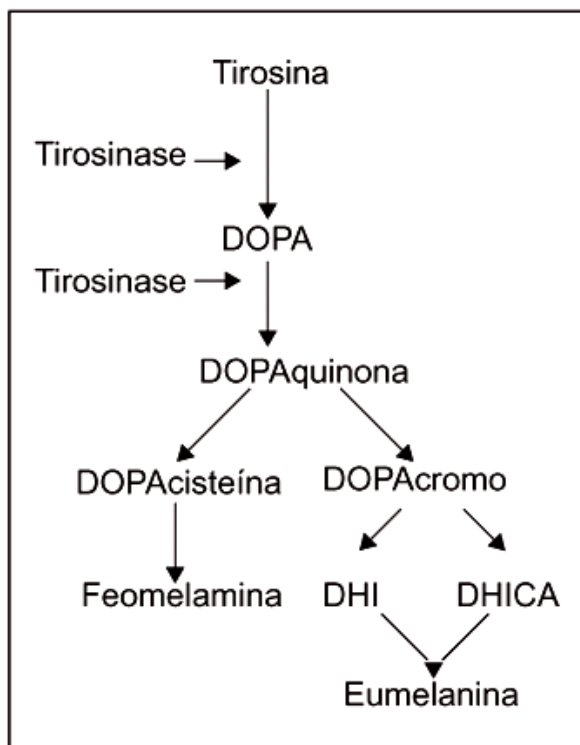


Figura 5 – Biossíntese de melanina.

Fonte: Rocha & Melo, 2007.

Conforme Sato et al (2007), “as hiperpigmentações são, em geral, distúrbios caracterizados pelo aumento de melanina e outros pigmentantes na pele. Os principais desencadeadores são as radiações solares, os hormônios sexuais e agentes externos, fontes de radicais livres”.

Tanto a hiper como a hipopigmentação são tratadas com produtos cosméticos ou farmacêuticos que contêm substâncias despigmentantes, que são sintéticos ou de origem natural. Transtornos da pigmentação também podem ser tratadas com peeling mecânico aliado a substâncias químicas ou tratamentos com raios laser (GRIMES, 1999).

As terapias atuais têm mostrado resultados menos do que satisfatórios no tratamento de várias desordens dermatológicas tais como melasma, hiperpigmentação pós – inflamatória, lentigo senil e efélides, e os efeitos secundários dessas terapias incluem alta citotoxicidade e mutagenicidade, pouca penetração na pele e a baixa estabilidade das formulações (GRIMES, 1999; NERVA et al, 2003).

Em contrapartida, existem resultados satisfatórios obtidos em estudos de triagem realizados por pesquisadores, que relatam a identificação de atividade inibitória da melanogênese por extratos de plantas, que aliado ao fato de que no Brasil a biodiversidade corresponde a 20% da biodiversidade do mundo (SUFFREDINI et al, 2004), os agentes podem ser encontrados e, eventualmente, usados em cosméticos e produtos farmacêuticos (MACRINI et al, 2009).

## **Inibição da Tirosinase**

Existem várias maneiras de uma substância inibir a atividade da tirosinase, por exemplo, o ácido ascórbico, que é usado como um inibidor da melanogênese por causa de sua capacidade de conversão da dopaquinona a dopa, evitando formações de melanina. Outra forma são os substratos alternativos de enzimas, como alguns compostos fenólicos, que ao mostrarem uma boa afinidade pela enzima, a formação dopacromo é impedida.

Temos também os inativadores inespecíficos da enzima, tais como ácidos ou bases, que não especificamente desnaturam a enzima, mas inibem sua atividade. Os inativadores específicos da tirosinase, tais como inibidores baseados em mecanismo, que também são chamados de substratos suicídio, que inativam irreversivelmente a enzima durante a reação catalítica. Os inibidores específicos da tirosinase são os compostos que se ligam reversivelmente a tirosinase e reduzem sua capacidade catalítica. Entre os tipos de compostos descritos acima, só os inativadores de tirosinase específicos e inibidores são considerados como "inibidores de verdade", que se ligam à enzima e inibem sua atividade. De maneira geral, os demais inibidores apresentam apenas atividade inibitória fraca (CHANG, 2009).

Os "inibidores de verdade" são classificados em quatro tipos, que são: inibidores competitivos (uma substância que se mistura com uma enzima livre de maneira que impeça a ligação do substrato); inibição incompetitiva, por exemplo os quelantes de cobre; inibidores não competitivos (se ligam apenas com o complexo enzima-substrato); tipo misto de inibidores (competitivo/não competitivos)(CHANG, 2009).

## Alelopatia

Devido ao processo de desmatamento do Cerrado, hoje este ecossistema do Brasil ocorre em áreas relativamente restritas. Nos dias atuais grandes esforços são realizados para a manutenção e conservação do cerrado, tendo em vista a importância da biodiversidade vegetal e da fauna nele presente (SILVA et al, 2006). Contudo, a conservação e o uso sustentável de áreas do Cerrado dependem ainda de conhecimentos básicos sobre o desenvolvimento e adaptação das espécies ocorrentes nesse ecossistema, sendo que a alelopatia é um ponto que precisa ser muito desvendado.

O termo alelopatia foi adotado por Molisch (1937) e significa do grego *allelon* = de um para outro, *pathós* = sofrer. Onde a alelopatia é a ação de um indivíduo sobre o outro, seja benéfica ou prejudicial ao segundo, sendo que tal efeito é feito por aleloquímicos, produzidos por um vegetal e lançados no ambiente, podendo ser lançado ao solo através de lixiviação da água, substâncias gasosas volatilizadas no ar que cerca os vegetais terrestres (RIZVI et al, 1992).

Essa capacidade dos aleloquímicos tem sido muito utilizada na agricultura, no lugar de herbicidas, inseticidas e nematicidas, que são os defensivos agrícolas. Grande parte destes compostos provém do metabolismo secundário, porque na evolução das plantas representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (WALLER, 1999).

A capacidade de tolerância ao aleloquímicos é considerada mais ou menos específica, pois existem espécies que não são resistentes, como por exemplo, *Lactuca sativa* (alface) e *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate), por isso muito utilizadas em biotestes de laboratório (FERREIRA & ÁQUILA, 2000). A química de produtos naturais têm avançado muito, o que se deve principalmente aos métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação, o que gera um conhecimento mais profundo de inúmeros compostos secundários, como por exemplo os terpenóides, compostos fenólicos, alcalóides e vários outros tipos químicos, que são considerados compostos potencialmente aleloquímicos.

Essas substâncias se apresentam de diferentes formas, por exemplo, concentração, localização e composição, sendo liberados para o meio no solo ou no ar de forma ativa ou levados pela água (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

## Referências Bibliográficas

AGUIAR, L.M.S.; MACHADO R.B.; MARINHO-FILHO J. A diversidade biológica do Cerrado. In: L.M.S. Aguiar & A. Camargo (eds.). Ecologia e caracterização do Cerrado. 2004, pp. 19-42.

AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**. v. 18,n. 1, p. 75-81, 2002.

ALMEIDA, S.P; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J.F. 1998. Cerrado: espécies vegetais úteis. Embrapa-CPAC, Planaltina. 464p, 1998.

ALVES, H. M. A Diversidade das Plantas como Fonte de Fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. v. 3, p.10-15, 2001.

ANDRADE-WARTHA, E.R.S. Capacidade antioxidante in vitro do pedúnculo de caju (*Anacardium Occidentale* L.) e efeito sobre as enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal. São Paulo, 111p, 2007. [Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo]

ANDREOLA, F.; COSTA, L.M.; OLSZEWSKI, N. Influência da cobertura vegetal de inverno e da adubação orgânica e, ou, mineral sobre as propriedades físicas de uma terra roxa estruturada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 24, n. 4, p. 857-865, 2000.

ATOUI, A.K., MANSOURI, A., BOSKOU, G., KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry** V.89 p.27-36, 2005.

BAILEY, A. E. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 5th ed., John Wiley: New York, vol. 3, 1996.

BESSA, D.T.O.; MENDONCA, M.S. de; ARAUJO, M.G.P. de. Morfo-anatomia de sementes de *Dipteryx odorata* (AUBL.) WILL. (FABACEAE) como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região amazônica. **Acta Amazônica**. v.31, n.3, p.357-364, 2001.

BIRCH, A.E. et al. Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, p. 4502-4507, 2001.

BOUDET, A.M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**. v . 68, p. 22-24, 2007.

CHANG, TE-SHENG. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, p.2440-2475, 2009.

CORRÊA, G. C.; NAVES, R. V.; ROCHA, M. R.; ZICA, L. F. Caracterização física de frutos de baru (*Dipteryx alata* Vog.) em três populações nos cerrados do Estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. v. 30, n. 2, p. 5-11, 2000.

COULADIS M.; BAZIOU P.; VERYKOKIDOU E.; LOUKIS A. Antioxidant activity of polyphenols from *Hypericum triquetrifolium* Turra. **Phytotherapy Research**. v.16, p. 769-770, 2002.

EVELINE, C.. Hiper Cromias: tudo o que você sempre quis saber. **Bel Col Cosméticos**. v. 32, p. 6-7, jul./ago., 2006.

FELIPPE JUNIOR, J *et al.* Efeito de antioxidantes endovenosos sobre a peroxidação lipídica em humanos. São Paulo, 2004. Disponível em:  
<<http://www.medicinacomplementar.com.br/temaSET05.asp>>. Acesso em: 12 abr. 2011.

FELIX R.A.Z.; ONO E.O.; SILVA C.P.; RODRIGUES J.D.; PIERI C. Efeitos alelopáticos da *Amburana cearensis* L. (Fr.All.) AC Smith na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.). **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, p. 138-140, 2007.

FERREIRA A.G.; ÁQUILA M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A.G. Alelopatia: sinergismo e inibição. In: R.J.M.C. Nogueira, E.L. Araújo, L.G. Willadino, U.M.T. Cavalcante (eds.). *Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas*, Imprensa Universitária, UFPE. p. 433-440, 2005.

FONSECA A.M.; BIZERRA A.M.C.; SOUZA J.S.N.; MONTE F.J.Q.; OLIVEIRA M.C.F.; MATTOS M.C.; CORDEL G.A.; BRAZ-FILHO R.; LEMOS T.L.G. Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, p.193-198, 2009.

GANDRA, P.G.; ALVES, A.A.; MACEDO, D.V. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante para avaliação do exercício físico. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 10-15, nov. 2004.

GRIMES, P. E. The safety and efficacy of salicylic acid chemical peels in darker racial-ethnic groups. **Dermatologic Surgery**. v.25, p.18-22, 1999.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R.G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasilica**, v. 17, n. 4, 2003.

HASLAM, E. *Practical Polyphenolics from structure to molecular recognition and physiological action*, Cambridge University Press: Cambridge, 1998, 103p.



HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. 3<sup>rd</sup> ed. New York, Oxford, 1999.

HAYASHI, T.; THOMSON, R. H. Isoflavones from *Dipteryx odorata*. **Phytochemistry**. v. 13, p. 1943, 1974.

JANG, D. S.; PARK, E. J.; HAWTHORNE, M. E.; VIGO, J. S.; GRAHAM, J. G.; CABIESES, F.; SANTARSIERO, B. D.; MESECAR, A. D.; FONG, H. H. S.; MEHTA, R. G.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 584, 2003.

KLINK C.A.; MACHADO R.B. Conservation of Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**. v. 19, p. 707-713, 2005.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do cerrado brasileiro. **Megadiversidade**. v.1, n.1, p. 147-155, 2005.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. Estimativas de perdas de Cerrado Brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF, 2004.

MACRINI, D. J. Extracts from Amazonian plants have inhibitory activity against tyrosinase: an in vitro evaluation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 45, n. 2, 2009.

MENDES, F.N.P.; SILVEIRA, E.R. Fatty acids, sesqui- and diterpenoids from seeds of *Dipteryx lacunifera*. **Phytochemistry**. v.35, p.1499, 1994.

MENDONÇA, R.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. N. Flora vascular do Cerrado. Cerrado: ambiente e flora. EMBRAPA-CPAC, Planaltina. p. 287-556, 1998.

MITTERMEIER R.A; FONSECA G.A.B.; RYLANDS A.B.; BRANDON K. A brief history of biodiversity conservation in Brazil. **Conserv. Biology**. v.3, p. 601-611, 2005.

MMA. Biodiversidade do Cerrado e Pantanal: áreas e ações prioritárias para conservação. Ministério do Meio Ambiente. Brasília: 2007. 540p.

MONCADA S.; HIGGS A. Nitric oxide: role in human disease. Encyclopedia of Life Sciences, 2001.

MOREIRA A.V.B.; MANCINI-FILHO J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**. v.17, p. 411-24, 2004.

NACZK M.; SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**. v. 1054 , p. 95-111, 2004.

NAKATO, T.; ALONSO, J.; GRILLET, R.; MARTIN, A. Isoflavonoids of the bark of *Dipteryx odorata* Willd. (Aubl.). **Journal of the Chemical Society**. v.9, p. 2107, 1979.

NAKATO, T.; SUAREZ, M. Studies on the neutral constituents of the bark of *Dipteryx odorata*. **Plantas medicinais**. v.18, p. 79, 1970.

NERVA, O.; MUSA, R.; IZRAEL, S.; TAMIR, S. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, p. 1201-1207, 2003.

NICOLETTI, M.A.; ORSINE, E.M.; DUARTE, A.C.; BUONO, G.A. Hiperchromia s: Aspectos Gerais e Uso de Despigmmentantes Cutâneos. **Cosmetics & Toiletries**. v. 14, p. 46-51, 2002.

OLIVEIRA, M.I.B. & SIGRIST, M.R. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. v.31, p. 195-207, 2008.

PODHAISKY, H. P.; RIEMSCHEIDER, S.; WOHLBAB, W. UV light and oxidative damage of the skin. **Pharmazie**. v.57, p.30-33, 2002.

RAUHA, J.P.; REMES, S.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; KAHKONEN, M.; KUJALA, T.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**. v.56, n.1, p. 3-12, 2000.

RAZAVI, S.M.; NAZEMIYEH, H.; HAJIBOLAND, R.; KUMARASAMY, Y.; DELAZAR, A.; NAHAR, L.; SARKER, S.D. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, p.1-5, 2008.

REBELO, M.M.; SILVA, J.K.R.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G.S. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, p. 230-235, 2009.

RIZVI, S.J.H.; HAQUE H.; SINGH V.K.; RIZVI V.A. A discipline called allelopathy. In: Rizvi, S. J. H.; Rizvi, V. (Ed.) Allelopathy: basic and applied aspects. London: Chapman & Hall. p. 1-10. 1992

RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. In Cerrado: ecologia e flora (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Cerrados, Planaltina. p.151 -212, 2008.

ROCHA, L.M.; MOREIRA, L.M.A. Diagnóstico laboratorial do albinismo oculocutâneo. **Jornal Brasileiro de Patologia**. v.43, n.1, p. 25-30, 2007.

SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F.; BRITO, M.A. de. Barú: biologia e uso. Planaltina: Embrapa Cerrados, 52p, 2004.

SATO M.E.O.; GOMARA F.; PONTAROLO R.; ANDREAZZA I.F.; ZARONI A. Permeação cutânea in vitro do ácido kójico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.43, n.2, p.195-203, 2007.

SHAHIDI F.; NACZK M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic; 1995.

SILVA, L. O.; COSTA D. A.; FILHO K. E. S.; FERREIRA H. D.; BRANDÃO D. Levantamento florístico e fitossociológico em duas áreas de cerrado sensu stricto no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Goiás. **Acta Botânica Brasilica**. v.16, n.1 p 43-53, jan. 2002.

SILVA, J.F.; FARIÑAS, M.R.; FELFILI, J.M.; KLI, C.A. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. **Jornal de Biogeografia**. v. 33, p. 536-548, 2006.

SOUSA, A.G.O.; FERNANDES D. C.; ALVES A.M.;FREITAS J.B.; NAVES MM.V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**. v. 44, p. 827- 834, 2011.

SUFFREDINI, I. B.; SADER, H. S.; GONÇALVES, A. G.; REIS, A. O.; GALES, A. C.; VARELLA, A. D.; YOUNES, R. N. Screening of antibacterial active extracts obtained from plants native to Brazilian Amazon rain forest and Atlantic forest. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 37, p.379-384, 2004.

VERA, R.; SOARES JUNIOR M.S.; NAVES R.V.; SOUZA E.R.B.; FERNANDES E.P.; CALIARI M.; LEANDRO, W.M. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* vog.) de ocorrência natural no cerrado do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, n.1, p. 112-118, 2009.

WALLER G.R.; FEUG M.C.; FUJII Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soilsecondary metabolites. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) Principles and practices in plant ecology. p. 75-98, 1999.

WALTER, B.H. Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas. Tese de doutorado em Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

## **OBJETIVOS GERAIS**

- Produzir os extratos vegetais brutos de partes aéreas de baru (*Dipteryx alata* Vogel);
- Verificar a presença de fenóis nos extratos e quantificá-los;
- Verificar a capacidade antioxidante dos extratos;
- Verificar as atividades inibidoras de tirosinase no extrato vegetal bruto;
- Verificar a capacidade quelante em relação aos íons  $\text{Cu}^{2+}$  no extrato vegetal bruto;
- Verificar o potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de baru.

## Capítulo I

### BARU COMO FONTE POTENCIAL DE FENÓIS, ANTIOXIDANTES E INIBIDORES DA TIROSINASE

**RESUMO:** Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao mesmo. Além disto, as substâncias fenólicas são reconhecidamente detentoras de pronunciada atividade antioxidante, que muitas vezes estão envolvidas em tratamentos de problemas de pigmentação, que resultam em hiperpigmentações ou hipopigmentação cutâneas. Para o tratamento desses problemas de pigmentação vários produtos cosméticos e farmacêuticos são utilizados, porém, esses produtos não são totalmente eficazes ou seguros, o que explica a intensa pesquisa, que procura desvendar novos agentes despigmentantes, principalmente aqueles envolvidos na melanogênese, como a tirosinase. Devido ao fato de que algumas substâncias obtidas de plantas apresentam essa atividade, a flora brasileira constitui-se uma importante fonte de obtenção de novas substâncias. Assim, este trabalho foi realizado para avaliar os fenóis, a atividade antioxidante, a capacidade de quelação dos íons cobre e a capacidade de inibição da tirosinase do extrato das folhas da espécie *Dipteryx alata* Vogel. Os resultados de fenóis totais mostraram uma concentração de 112,3 mg EAG.g<sup>-1</sup> no extrato etanólico e 45 mg EAG.g<sup>-1</sup> no extrato hexânico. A capacidade antioxidante dos extratos indica que o extrato etanólico (52,9 ± 1,3 ppm), em comparação ao hexânico (169,1 ± 2,3 ppm) e ao BHT (181 ± 6 ppm), possui maior teor de compostos antioxidantes. Já a capacidade de quelação dos íons cobre mostrou que o extrato etanólico possui capacidade de quelação insignificante. No ensaio de inibição da tirosinase o extrato etanólico demonstrou uma percentagem de inibição da enzima de 42% após uma hora.

**Palavras-chave:** *Dipteryx alata* Vogel, DPPH, hiperpigmentação, tirosinase.

**ABSTRACT:** In recent years, a substantial amount of evidence has shown the key role of free radicals and other oxidants such as largely responsible for aging and degenerative diseases associated with it. Furthermore, the phenolic substances are known to be holding pronounced antioxidant activity, which often are involved in the treatment of pigmentation problems, which result in skin hyperpigmentation or hypopigmentation. For the treatment of pigmentation problems various cosmetic and pharmaceutical products are used, however, these products are not fully effective or safe, which explains the intense research that seeks to uncover new depigmenting agents, especially those involved in melanogenesis such as tyrosinase. Due to the fact that some substances obtained from plants exhibit this activity, flora constitutes an important source of obtaining new substances. Thus, the work was conducted to evaluate the phenolics, antioxidant activity, the ability to chelation of copper ions and the ability to inhibit tyrosinase extract from the leaves of the species *Dipteryx alata* Vogel. The results showed a total phenol concentration of 112.3 mg EAG. g<sup>-1</sup> in the ethanol extract and 45 mg EAG.g<sup>-1</sup> in hexane extract. The antioxidant activity of extracts indicates that the ethanol extract (52.9 ± 1.3 ppm), compared to hexane (169.1 ± 2.3 ppm) and the BHT (181 ± 6 ppm), has a higher content of antioxidant compounds. Since the ability to chelation of copper ions showed that the ethanolic extract is capable of chelation insignificant. In tyrosinase inhibition test the ethanolic extract showed an inhibition of the enzyme percentage 42% after one hour.

**keywords:** *Dipteryx alata* Vogel, DPPH, hyperpigmentation, tyrosinase.

## INTRODUÇÃO

Ocupando a posição de segundo maior e um dos mais diversos biomas do Brasil, o cerrado se distribui em cerca de 21% do território nacional e abriga aproximadamente 33% da diversidade biológica brasileira. Devido ao grande número de espécies, ao alto grau de endemismo e à intensa destruição de seus habitats, o Cerrado é considerado um *hotspot* mundial, ou seja, área prioritária de conservação da biodiversidade (Aguiar et al. 2004).

O gênero *Dipteryx* é constituído por 15 espécies que se destacam por serem utilizadas como plantas medicinais. São encontradas nas regiões amazônica,

nordeste e central do Brasil, na Venezuela e na América Central (Costa Rica e Panamá). O baru possui grande importância devido a sua elevada ocorrência e por participar do modelo de exploração praticado pelos pequenos produtores rurais, onde ocorre a preservação das plantas durante a abertura dos pastos (Corrêa et al. 2000). Trata-se de uma espécie com um cultivo muito promissor, pois pode ser usada para diversos fins, onde pode-se destacar o uso na alimentação, na indústria madeireira, na arquitetura paisagística e na recuperação de áreas degradadas.

Os frutos de baru são colhidos de agosto a outubro, sendo que estes contêm uma semente marrom comestível que é chamada de amêndoa, considerada uma oleaginosa. A amêndoa de baru contém altos níveis de lipídios (cerca de 40%) e proteínas (cerca de 30%), apresenta boa digestibilidade e perfil de aminoácidos. Outrossim, a amêndoa de baru tem um alto teor de minerais, principalmente cálcio, ferro, magnésio, potássio e zinco (Sousa et al, 2011). Possui também importância medicinal, pois em 2002, a Ichimaru Pharcos Inc. solicitou patente, por ter obtido uma substância do óleo da semente de baru que atua inibindo a formação de melanina (Sano et al, 2004).

Diversas substâncias com atividade antioxidante, presentes em plantas medicinais, são comumente isoladas nos mais diversos tipos de vegetais, onde os principais responsáveis por tal atividade são as substâncias fenólicas que atuam como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais, alertando assim para a importância desses compostos, que podem ser utilizados em diversas patologias (Haslam, 1998).

Uma dessas patologias é a hiperpigmentação da pele, que pode ser dependente tanto de um aumento do número de melanócitos quanto da atividade melanogênica de enzimas, como a tirosinase. A tirosinase é a enzima que desempenha um papel crítico na biossíntese de melanina e é considerada a enzima chave na coloração de pele, cabelo, olhos e no escurecimento de alimentos. A tirosinase, é uma enzima que contém cobre, é amplamente presente em mamíferos, plantas e fungos e aceita muitos fenóis como substratos. Nos mamíferos, ela está envolvida na transformação da L-tirosina, para dopaquinona, que ocorre através de duas etapas: hidroxilação da L-tirosina, para L-3 ,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA),

depois da oxidação deste último para orto-quinona (dopaquinona). A dopaquinona será transformada posteriormente através de várias reações para produzir a melanina marrom ou preta, que é responsável pela cor da pele de mamíferos (Okombi et al, 2006).

A melanina desempenha um papel importante na proteção da pele humana dos efeitos nocivos da radiação UV do sol. Conquanto a melanina tenha principalmente função de fotoproteção na pele humana, o acúmulo de uma quantidade anormal de melanina em diferentes partes específicas da pele, resultando em manchas mais pigmentadas, pode se tornar um problema estético (Chang, 2009).

Muitos compostos inibidores e ativadores da tirosinase têm se tornado cada vez mais importantes em produtos medicinais e cosméticos. Por exemplo, os inibidores da tirosinase são usados em medicamentos e cosméticos despigmentantes, ao passo que os compostos que tendem a aumentar a melanogênese, como ativadores de tirosinase podem proteger a pele humana contra o dano da radiação UV solar (Okombi et al, 2006).

Devido a grande utilização desses produtos, vários compostos naturais e sintéticos atuando como inibidores da tirosinase foram relatados, mas apenas alguns deles são usados como agentes de clareamento da pele, devido a questões de segurança. Por exemplo, arbutin e o ácido kójico estavam entre os mais populares antes da descoberta dos efeitos secundários graves, o que levou a limitação do seu uso humano (Okombi et al, 2006).

Com efeitos insatisfatórios no tratamento das hiperpigmentações como melasma, hiperpigmentação pós – inflamatória, lentigo senil e efélides, as terapias atuais, que incluem a hidroquinona, o ácido kójico e a vitamina C, têm demonstrado vários efeitos secundários, dentre os quais podemos citar alta citotoxicidade e mutagenicidade, pouca penetração na pele e a baixa estabilidade das formulações (Nerva et al, 2003).

Contudo, alguns estudos de triagem realizados por pesquisadores, mostram que extratos de plantas possuem certa capacidade inibitória da melanogênese, que aliado ao fato de que no Brasil a biodiversidade corresponde a 20% da



biodiversidade do mundo (Suffredini et al, 2004), os agentes podem ser encontrados e, eventualmente, usados em cosméticos e produtos farmacêuticos (Macrini et al, 2009).

O objetivo deste trabalho foi determinar os fenóis totais, a atividade antioxidante, a capacidade de quelação dos íons cobre e a capacidade de inibição da tirosinase presentes na espécie *Dipteryx alata* Vogel.

## **MATERIAL E MÉTODO**

As folhas foram obtidas na Área de Preservação Ambiental do Bioma Cerrado da Universidade de Rio Verde – FESURV (17°47'17.85"S, 50°57'57.65"Oe altitude média de 785m), sendo processadas no Laboratório de Química Tecnológica do Instituto Federal Goiano, *campus* Rio Verde e identificadas no Herbário Jataiense (HJ 3882).

As folhas foram secas em estufa na temperatura de 42°C, até a obtenção de massa constante e trituradas na forma de um pó homogêneo. Cerca de 40 g do pó resultante foram colocados em um erlenmeyer, e adicionado um volume de cerca de 400 mL de hexano, permanecendo a temperatura ambiente por dois dias, em ambiente escuro. Após este período, foi feita a filtração sob destilação sob pressão reduzida. O procedimento foi repetido por mais duas vezes com o solvente hexano, obtendo-se desta forma o extrato bruto hexânico das folhas (EH).

Em seguida, o mesmo procedimento foi repetido, utilizando-se etanol como solvente, obtendo-se o extrato bruto etanólico das folhas (EE). O rendimento dos extratos foi calculado pela expressão: Rendimento (%) = (massa do extrato/massa do material vegetal) x 100.

## **DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS**

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras dos extratos das folhas foi feita utilizando-se o método de Folin–Ciocalteu com modificações (Bonoli et al, 2004). O extrato bruto (100 mg) foi dissolvido em etanol, transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e o volume final foi completado com etanol. Uma alíquota de 100 µL desta última solução foi agitada com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6,4 mL de água destilada por 1 min; passado este tempo, 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 15% foram adicionados à mistura e agitada

por 30 s. Após 2 h, a absorbância das amostras foi medida a 750 nm. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado através de uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL) e expresso como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. As análises foram realizadas em triplicata.

### **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH**

A capacidade antioxidante foi avaliada segundo método descrito por Melo et al. (2006), usando o radical livre estável DPPH. Cerca de 2,0 mg de DPPH foram dissolvidos em 100 mL de etanol, resultando em solução de concentração 20 mg.L<sup>-1</sup> (500 µM), com uma absorbância em torno de 0,4 U.

Alíquotas de volumes entre 0 e 1000 µL das soluções estoque da amostra e de BHT foram transferidas, adicionando-se etanol, até completar o volume para 1mL. Em seguida, foram adicionados 4 mL da solução de DPPH. As misturas foram deixadas em repouso em um local escuro, por 30 minutos, e suas absorbâncias medidas a 517nm. Soluções de compensação foram feitas, usando apenas etanol, no lugar da solução de DPPH.

A capacidade antioxidante foi calculada como sendo o percentual de DPPH sequestrado em cada concentração, pela equação abaixo:

$$\%DPPH_{seq} = \frac{Abs(Controle) - [Abs(amostra) - Abs(compensação)]}{Abs(Controle)} \times 100$$

Os dados obtidos foram usados para construir curvas de DPPH sequestrado versus a concentração da amostra, de modo a determinar a Concentração Efetiva 50 (CE50), ou seja, a concentração necessária para sequestrar metade do teor inicial de DPPH, através da análise de regressão linear e interpolação dos mesmos.

Todas as medidas foram realizadas em três experimentos independentes, cada um em triplicata, e os resultados foram expressos em mg.L<sup>-1</sup> como média e desvio padrão.

### **PROCEDIMENTO PARA ENSAIO DE INIBIÇÃO DE TIROSINASE**

A tirosinase de cogumelo e a L-tirosina foram adquiridos da Sigma Chemical Co e Vetec, respectivamente.

A atividade da tirosinase foi determinada por espectrofotometria, realizada conforme descrito por Khatib (2005), com adaptações em nosso laboratório. De forma geral, foram preparadas 3 soluções: uma contendo 500 µL de tampão fosfato (pH 7,0), 2mL da tirosinase de cogumelo (200 U / mL) e 50 µL da amostra da solução com extrato etanólico da planta (1000 ppm), outra contendo 500 µL de tampão fosfato (pH 7,0), 2mL da tirosinase de cogumelo (200 U / mL) e 50 µL de etanol e outra contendo 500 µL de tampão fosfato (pH 7,0), 2mL da tirosinase de cogumelo (200 U / mL) e 50 µL de ácido Kójico (1000 ppm). Após 5 minutos, 2 mL de solução de 2 mM de L-tirosina foi adicionado a cada solução teste. A absorção a 475 nm foi monitorada em função do tempo, realizando-se duas leituras, uma em 30 minutos e outra após 60 minutos. A variação da densidade ótica foi comparada na presença e ausência dos extratos para verificar a inibição da tirosinase.

#### **PROCEDIMENTO PARA QUELAÇÃO COM ÍONS $\text{Cu}^{2+}$**

A capacidade quelante em relação aos íons  $\text{Cu}^{2+}$  do extrato foi avaliada por medidas de absorbância na faixa entre 260 a 500 nm. Inicialmente incubou-se 500 µL da solução do extrato etanólico da planta (1000 ppm), 500 µL da solução de ácido Kójico (1000 ppm) e 2 mL de tampão fosfato (pH 6,5), obtendo-se 2 amostras. Em seguida realizou-se a leitura da absorbância na faixa entre 260 a 500 nm. Após a leitura adicionou-se 100 µL da solução de  $\text{CuSO}_4$  nas amostras e realizou-se novamente a leitura da absorbância, em seguida, adicionou-se 100 µL da solução de EDTA (250 µM), então novamente fez-se a leitura da absorbância, verificando a formação ou não de complexos, através da alteração das medidas de absorbância.

#### **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram apresentados como médias e desvios padrão de três ensaios independentes. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR. Dados com  $p < 0,05$  serão considerados significativos.

#### **RESULTADO E DISCUSSÃO**

O método de Folin-Ciocalteu permite quantificar compostos fenólicos presentes nas amostras. A Tabela 1 demonstra a quantidade total de fenóis dos extratos das folhas obtidas por extração hexânica e etanólica. A fração etanólica apresentou maiores quantidades de compostos fenólicos, com um teor de 112,3 mg

EAG.g<sup>-1</sup>. Já a fração hexânica apresentou menores teores, 45,0 mg EAG.g<sup>-1</sup>. Sendo que esse teor foi obtido a partir da curva de calibração em ácido gálico, cuja concentração de Abs = 0,0012 x (Conc Ácido Gálico, ppm) – 0,0007, R = 0,9995.

TABELA 1. Teor de Fenóis Totais expressos Equivalentes de Ácido Gálico (EAG).

Extração	Fenóis Totais (mg EAG.g <sup>-1</sup> ms)
Etanólica	112,3 ± 5,1 a
Hexânica	45,0 ± 7,6 b

\*ms: massa seca

Letras minúsculas iguais indicam equivalência estatística pelo SISVAR. Ambos ao nível 5% de significância.

A quantidade de extrato das plantas testadas necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, CE50, apresentada na tabela 2, variou de 52,9 ppm, 169,1 ppm e 181 ppm para o extrato etanólico, hexânico e BHT, respectivamente. Isto indica que os compostos com atividade antioxidante concentram-se preferencialmente no extrato mais polar (etanol), enquanto que os compostos mais apolares não apresentam atividade antioxidante significativa. O extrato etanólico apresenta uma CE50 interessante, constituindo uma possível fonte de compostos antioxidantes, já que mostrou uma atividade maior do que o BHT.

TABELA 2. Atividade Antioxidante dos Extratos Etanólico e Hexânico.

Extratos	Quantidade de extrato necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE50) (ppm).
Etanólico	52,9 ± 1,3 a
Hexânico	169,1 ± 2,3 b
BHT	181 ± 6 c

Letras minúsculas iguais indicam equivalência estatística pelo SISVAR. Ambos ao nível 5% de significância.

Atualmente, diversos estudos epidemiológicos mostram que os compostos fenólicos constituem uma das classes mais abundantes do no reino vegetal, e possuem múltiplos efeitos biológicos (Rao, 2003).

Vários antioxidantes naturais já foram isolados de diferentes tipos de materiais vegetais, como sementes oleaginosas, cereais, legumes, frutas, folhas, raízes, temperos e ervas (Ramarathnam et al, 1995). Compostos antioxidantes foram identificados nas sementes de citros (Alessandra et al, 1998), uva (Jayaprakasha et al, 2001), manga (Puravankara et al, 2000), canola (Krygier et al, 1982; Naczek et al, 1998; Wanasundara et al, 1994), girassol (Kubicka et al, 1999), primula (Balasinska & Troszynska, 1998; Wettasinghe & Shahidi, 1999), gergelim (Shahidi et al, 1997), linhaça (Oomah et al, 1995) e tremoço (Tsaliki et al, 1999), ainda, estudos relacionados com a atividade antioxidante de sementes de frutas tropicais e subtropicais têm sido pouco relatados.

Outros trabalhos também mostram que muitos compostos fenólicos presentes em plantas apresentam atividade inibitória da tirosinase (Sugumaran, 2002; Boissy & Manga, 2004; Victor et al, 2004).

Por isso, o extrato escolhido para o teste de inibição da tirosinase foi o etanólico, que apresentou maiores teores de compostos fenólicos. Há também relatos de que compostos fenólicos podem ser usados como agentes despigmentantes, devido ao fato de possuírem uma estrutura química semelhante a da tirosina, o substrato da tirosinase (Boissy & Manga, 2004). Portanto, a potência das substâncias utilizadas como agentes despigmentantes da pele, se deve, pelo menos em partes, pela ação de componentes fenólicos (Wang et al, 2006).

A tabela 3 mostra a percentagem de ativação/inibição da tirosinase, onde a enzima pura obteve 100% de ativação após uma hora, o extrato etanólico inibiu 42% após uma hora, e o ácido kójico inibiu completamente a enzima, chegando a apresentar valores negativos.

**TABELA 3. Percentagem de ativação/inibição da enzima tirosinase.**

	Enzima Pura	Enzima + Extrato etanólico	Enzima +Ácido kójico
60'	100% a	42% b	-1% c

Letras minúsculas iguais indicam equivalência estatística pelo teste de Tukey. Ambos ao nível 5% de significância.

A pele clara e sem manchas é uma característica importante, por isso esses problemas de pigmentação podem afetar a autoestima de um indivíduo, porém,

felizmente, existem tratamentos, que amenizam esse efeito. Nos últimos anos houve um acréscimo significativo na quantidade de produtos usados para o clareamento da pele disponíveis no mercado, contudo, as terapias não têm demonstrado bons resultados. Isto se deve a alta toxicidade das substâncias de branqueamento, como a observado para a hidroquinona (GRIMES, 1999), o que estimula a necessidade de pesquisas com a intenção de nomear novas substâncias despigmentantes (MACRINI et al, 2009).

Existem várias maneiras de uma substância inibir a atividade da tirosinase, por exemplo, o ácido ascórbico, que é usado como um inibidor da melanogênese por causa de sua capacidade de conversão da dopaquinona a dopa, evitando formações de melanina. Outra forma são os substratos alternativos de enzimas, como alguns compostos fenólicos, que ao mostrarem uma boa afinidade pela enzima, a formação dopacromo é impedida. Temos também os inativadores inespecíficos da enzima, tais como ácidos ou bases, que não especificamente desnaturam a enzima, mas inibem sua atividade. Os inativadores específicos da tirosinase, tais como inibidores baseados em mecanismo, que também são chamados de substratos suicídio, que inativam irreversivelmente a enzima durante a reação catalítica. Os inibidores específicos da tirosinase são os compostos que se ligam reversivelmente a tirosinase e reduzem sua capacidade catalítica. Entre os tipos de compostos descritos acima, só os inativadores de tirosinase específicos e inibidores são considerados como "inibidores de verdade", que se ligam à enzima e inibem sua atividade. De maneira geral, os demais inibidores apresentam apenas atividade inibitória fraca (CHANG, 2009).

Os "inibidores de verdade" são classificados em quatro tipos, que são: inibidores competitivos (uma substância que se mistura com uma enzima livre de maneira que impeça a ligação do substrato), inibição incompetitiva, por exemplo, os quelantes de cobre; inibidores não competitivos (se ligam apenas com o complexo enzima-substrato); tipo misto de inibidores (competitivo/não competitivos) (CHANG, 2009).

TABELA 4: Picos máximos de absorção antes e após a adição de solução de Cobre.

	Pico máximo	Pico máximo
Ácido Kójico	270 nm	
Ácido kójico + Solução de Cobre	310 nm	
Extrato	325 nm	410 nm
Extrato + Solução de Cobre	325 nm	410 nm

A capacidade de quelação dos íons cobre não apresentou resultados significativos (ver Tabela 4), pois podemos observar que não ocorre deslocamento dos picos máximos com a adição do cobre, enquanto que tal fato pode ser observado na solução de ácido kójico. Tal fato mostra que a inibição da enzima apresentada no extrato etanólico das folhas não ocorre por ação de inibidores incompetitivos por quelação de cobre. Mostrando assim que a inibição ocorre possivelmente devido ao extrato etanólico apresentar quantidades significativas de compostos fenólicos, que por possuírem uma estrutura semelhante a da tirosina, que é um substrato da enzima, se apresentam como substrato alternativo a enzima, entretanto, não sendo oxidados e competindo, desta forma, com a tirosina.

Os dados obtidos para os fenóis totais e atividade antioxidante indicam que os compostos secundários concentram-se preferencialmente nos extrato polar (etanólico) das folhas de *Dipteryx alata* Vogel, provavelmente tendo como constituintes polifenóis. Por isso, os testes de quelação e inibição da tirosinase foram realizados somente neste extrato, que demonstrou possuir capacidade de quelação dos íons cobre insignificante e certa capacidade de inibir a tirosinase nos testes *in vitro* por espectrofotometria.

Devido a grande necessidade de novas substâncias despigmentantes, que realmente sejam eficazes e não tragam tantos efeitos nocivos à saúde, é muito interessante estudar novas substâncias obtidas a partir da exploração de plantas do cerrado brasileiro, como o baru, uma vez que é composto por grande biodiversidade vegetal, com o objetivo de nomear plantas que desenvolvam em potencial atividades inibidoras da enzima tirosinase, que possam substituir efetivamente os compostos sintéticos encontrados no mercado.

Por se tratar de um extrato bruto etanólico, existem inúmeras substâncias que podem ser responsáveis por tal capacidade, por isso, os resultados descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos dos compostos presentes no extrato

etanólico, com a intenção de isolar e identificar as substâncias responsáveis pela ação antioxidante e inibidora da tirosinase presentes no baru. Tal extrato pode se tratar de um interessante candidato para a avaliação de ensaios biológicos mais complexos, tais como toxicidade *in vitro*, culturas de melanócitos e, eventualmente, testes em humanos em ensaios *in vivo*.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a Capes pela concessão de bolsa e pelo auxílio financeiro, que são de extrema importância para a execução das pesquisas.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AGUIAR, L.M.S.; MACHADO R.B.; MARINHO-FILHO J. **A diversidade biológica do Cerrado**. In: L.M.S. Aguiar & A. Camargo (eds.). Ecologia e caracterização do Cerrado. 2004, pp. 19-42.

ALESSANDRA, B.; MARIE-ELISABETH, C.; HUBERT, R.; CLAUDETTE, B. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 2123–2129, 1998.

BALASINSKA, B.; TROSZYNSKA, A. Total antioxidant activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured in vitro by liposome model and murine L1210 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 3558–3563, 1998.

BOISSY, R.E.; MANGA, P. On the etiology of contact/occupational vitiligo. **Pigment Cell Research**. v. 17, p. 208–214, 2004.

BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F.; **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 5195, 2004.

CHANG, TE-SHENG. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, p.2440-2475, 2009.



CORRÊA, G. C.; Naves, R. V.; Rocha, M. R.; Zica, L. F. Caracterização física de frutos de baru (*Dipteryx alata* Vog.) em três populações nos cerrados do Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 30, n. 2, p. 5-11, 2000.

GRIMES, P. E. The safety and efficacy of salicylic acid chemical peels in darker racial-ethnic groups. **Dermatologic Surgery**, v.25, p.18-22, 1999.

HASLAM, E. **Practical Polyphenolics** from structure to molecular recognition and physiological action, Cambridge University Press: Cambridge, 1998, 103p.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, v. 73, p. 285–290, 2001.

KHATIB, S.; NERYA, O.; MUSA, R.; SHMUEL, M.; TAMIR, S.; VAYA, J. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the importance of a 2,4-substituted resorcinol moiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 13, p. 433–441, 2005.

KRYGIER, K.; SOSULSKI, F.; HOGGE, L. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure. **Food Chemistry**, v. 30, p. 330–334, 1982.

KUBICKA, E.; JEDRYCHOWSKI, L.; AMAROWICZ, R. Effect of phenolic compounds extracted from sunflower seeds on native lipoxygenase activity. **Grasas y Aceites**, v. 50, p. 3206–3209, 1999.

MACRINI, D. J.; SUFFREDINI I. B.; VARELLA A. D.; YOUNES R. N.; OHARA M. T. Extracts from Amazonian plants have inhibitory activity against tyrosinase: an in vitro evaluation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 2, 2009.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L., CAETANO A. C. S., NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.3, p. 639-644, 2006.

NACZK, M.; AMAROVICZ, R.; SULLIVAN, A.; SHAHIDI, F. Current research developments on polyphenolicsofrape seed/canola, a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 489–502, 1998.

NERVA, O.; MUSA, R.; IZRAEL, S.; TAMIR, S. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.1201-1207, 2003.

OKOMBI S.; RIVAL D.; BONNET S.; MARIOTTE A. M. ; PERRIERB E.; BOUMENDJEL A. Analogues of N-hydroxycinnamoylphenalkylamides as inhibitors of human melanocyte-tyrosinase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.16, n. 8, p. 2252-2255, 2006.

OOMAH, B. D.; KENASCHUK, E. O.; MAZZA, G. Phenolic acids in flaxseed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 2019–2026, 1995.

PURAVANKARA, D.; BOGHRA, V.; SHARMA, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p. 522–526, 2000.

RAMARATHNAM, N.; OSAWA, T.; OCHI, H.; KAWAKISHI, S. The contribution of plant food antioxidants to human health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 75–82, 1995.

RAO, B. Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**.v.12, p. 9–22, 2003.

SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F.; BRITO, M.A. de. **Baru: biologia e uso**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004, 52p.

SOUSA, A.G.O.; FERNANDES D. C.; ALVES A.M.;FREITAS J.B.; NAVES MM.V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**, v. 44, p. 827- 834, 2011.

SUFFREDINI, I. B.; SADER, H. S.; GONÇALVES, A. G.; REIS, A. O.; GALES, A. C.; VARELLA, A. D.; YOUNES, R. N. Screening of antibacterial active extracts obtained from plants native to Brazilian Amazon rain forest and Atlantic forest. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, p.379-384, 2004.

SUGUMARAN, M. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. **Pigment Cell Research**.v.15, p.2–9, 2002.

TSALIKI, E.; LAGOURI, V.;DOXASTAKIS, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). **Food Chemistry**,v. 65, p. 71–75, 1999.

VICTOR, F.C.;GELBER, J.;RAO, B.. Melasma: a review. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**.v.8, p.97–102, 2004.

WANG K.; LIN R.; HSUD F.; HUANGE Y.; HANGF H.; HUANGD C.; LEE M. Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 106, n. 3, p. 353-359, 2006.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal, a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1801–1812, 1999.

WANASUNDARA, U. N.; AMAROVICZ, R.; SHAHIDI, F. Isolation and identification of an antioxidative component in canola. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1285–1290, 1994.

## Capítulo II

# ATIVIDADE ALELOPÁTICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE BARU

**Resumo:** O potencial alelopático do extrato das folhas de baru (*Dipteryx Alata Vogel*) foi avaliado na germinação de *Brassica oleracea* L. cv. Coração de Boi (repolho), *Lycopersicum esculentum* Miller cv. Santa Cruz Kada (tomate), *Lactuca sativa* L. cv. veronica (alface). Os resultados obtidos mostram no teste de germinação, que existe um maior poder inibitório do extrato em relação às sementes de *Lycopersicum esculentum* Miller (100%), que não conseguiram germinar, enquanto que nas sementes de *B. oleracea* (28%) o extrato mostrou um menor poder de inibição, sendo que em relação à *Lactuca sativa* (0%), as sementes apresentaram maior resistência. Quanto ao Índice de Velocidade de Germinação, os dados demonstraram redução do índice nas sementes de tomate ( $0,0 \pm 0,0$ ) e repolho ( $4,9 \pm 3,0$ ) e não apresentando significantes resultados em relação à alface ( $96,3 \pm 4,8$ ).

**Palavras-chave:** alelopatia, *Dipteryx Alata Vogel*, *Brassica oleracea* L. cv. Capitata, *Lycopersicum esculentum* Miller, *Lactuca sativa* cv. Grand Rapids

## INTRODUÇÃO

O Cerrado é considerado um *hotspot* mundial, ou seja, área prioritária à conservação da biodiversidade, devido à elevada riqueza de espécies, o alto grau de endemismo e a intensa destruição de *habitats*. Se distribui em cerca de 21% do território nacional e abriga aproximadamente 33% da diversidade biológica brasileira (Aguiar et al. 2004; Mittermeier et al, 2005; Klink & Machado 2005).

Das espécies nativas do cerrado, o baru (*Dipteryx alata* Vogel), amplamente disseminado no Cerrado do Brasil Central, pertencente à família Fabaceae, das leguminosas, que é constituída por 15 espécies que se destacam por serem utilizadas como plantas medicinais, como por exemplo, o cumaru, muito rico em cumarina, que é um composto fenólico que inibe a germinação (Felix et al, 2007), é uma árvore que produz frutos nos meses de agosto a outubro, sendo que estes contêm uma semente marrom comestível que é chamada de amêndoa, considerada uma oleaginosa. A amêndoa de baru contém altos níveis de lipídios (cerca de 40%) e proteínas (cerca de 30%) com boa digestibilidade e perfil de aminoácidos. Outrossim, a amêndoa de baru tem um alto teor de minerais, principalmente cálcio, ferro, magnésio, potássio e zinco (Takemoto et al, 2001; Sousa et al, 2011).

Devido à grande distribuição da família das leguminosas, existem diversos estudos que avaliam as características dessas espécies, por exemplo, pesquisas que avaliam as propriedades medicinais, como *Bauhinia forficata* Link, *Amburana cearensis* A. C. Smith (Matos, 1992; Sousa et al, 2011), testes que avaliam a toxicidade: *Mimosa hostilis* (Fontenelle, 1988), *Phaseollus vulgares* e *Canavalia ensiformes* (Sales et al., 1996), *Vigna unguiculata* (Sales et al., 2001), *Stryphnodendrum coriaceum* (Tokarnia, et al., 2000); atividade antimicrobiana: *Vigna*

*unguiculata* (Gomes, 1997); ensaios que avaliam a atividade alelopática: *Vicia sativa* (Medeiros & Luckesi, 1993), *Acácia melanoxylon* (Gonzales et al, 1995).

Devido ao processo de desmatamento do Cerrado, hoje este ecossistema do Brasil ocorre em áreas relativamente restritas. Nos dias atuais grandes esforços são realizados para a manutenção e conservação do cerrado, tendo em vista a importância da biodiversidade vegetal e da fauna nele presente (Silva et al, 2006). Contudo a conservação e o uso sustentável de áreas do Cerrado dependem ainda de conhecimentos básicos sobre o desenvolvimento e adaptação das espécies ocorrentes nesse ecossistema, sendo que a alelopatia é um ponto que precisa ser muito desvendado.

O termo alelopatia foi adotado por Molisch (1937) e significa do grego allelon = de um para outro, pathós = sofrer. A alelopatia é a ação de um indivíduo sobre o outro, seja benéfico ou prejudicial ao segundo, sendo que tal efeito é causado por aleloquímicos, produzidos por um vegetal e lançados no ambiente, podendo ser lançado ao solo através de lixiviação da água, substâncias gasosas volatilizadas no ar que cerca os vegetais terrestres (Rizvi et al, 1992).

Essa capacidade dos aleloquímicos tem sido muito utilizada na agricultura, no lugar de herbicidas, inseticidas e nematicidas, que são os defensivos agrícolas. Grande parte destes compostos provém do metabolismo secundário, porque na evolução das plantas representaram alguma vantagem contra a ação de microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores, seja inibindo a ação destes ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas (Waller, 1999).

A capacidade de tolerância ao aleloquímicos é considerada mais ou menos específica, pois existem espécies que não são resistentes, como por exemplo, *Lactuca sativa* (alface) e *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate), por isso são muito utilizadas em biotestes de laboratório (Ferreira & Áquila, 2000). A química de produtos naturais têm avançado muito, o que se deve principalmente aos métodos modernos de extração, isolamento, purificação e identificação, o que gera um conhecimento mais profundo de inúmeros compostos secundários, como por exemplo os terpenóides, compostos fenólicos, alcalóides e vários outros tipos químicos, que são considerados compostos potencialmente aleloquímicos. Essas substâncias se apresentam de diferentes formas, por exemplo, concentração, localização e composição, sendo liberados para o meio no solo ou no ar de forma ativa ou levados pela água (Ferreira & Áquila, 2000).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial alelopático do extrato etanólico das folhas de *Dipteryx alata* Vogel, por se tratar do extrato que possui compostos polares (por exemplo, compostos fenólicos) devido ao tipo de extração, que são mais solúveis em água, representando a melhor chance para compostos alelopáticos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

As folhas foram obtidas na Área de Preservação Ambiental do Bioma Cerrado da Universidade de Rio Verde – FESURV (17°47'17.85"S, 50°57'57.65"O e altitude média de 785m), sendo processadas no Laboratório de

Química Tecnológica do Instituto Federal Goiano, *campus* Rio Verde e identificadas no Herbário Jataiense (HJ 3882).

As folhas foram secas em estufa na temperatura de 42°C, até a obtenção de massa constante e trituradas na forma de um pó homogêneo. Cerca de 40 g do pó resultante foram colocados em um erlenmayer, e adicionado um volume de cerca de 400 mL de hexano, permanecendo a temperatura ambiente por dois dias, em ambiente escuro. Após este período, foi feita a filtração sob destilação sob pressão reduzida. O procedimento foi repetido por mais duas vezes com o solvente etanol, obtendo-se desta forma o extrato bruto etanólico das folhas (EE). O rendimento dos extratos foi calculado pela expressão:  $\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato}/\text{massa do material vegetal}) \times 100$ .

## ENSAIO ALELOPÁTICO

Soluções de extratos foram produzidas através da dissolução de 10 mg de cada extrato em 10 mL de etanol.

Os testes de germinação foram realizados conforme descrito por Mourão Júnior & Souza Filho (2010). Brevemente, uma folha de papel germtest foi colocada sobre uma caixa do tipo gerbox e recebeu 3 mL de água destilada (controle), ou 3 mL da solução de extrato, sendo que posteriormente foi evaporado o solvente, ficando somente o extrato bruto seco que foi umidificado com água destilada. Quatro replicados com 10 sementes comerciais de sativa *Lactuca sativa* L. cv. verônica (Alface), *Lycopersicon esculentum* Miller cv. Santa Cruz Kada (tomate) e *Brassica oleracea* L. cv. Coração de Boi (repolho) foram utilizados para cada tratamento. As caixas do tipo gerbox foram colocadas em uma câmara de germinação a 25 °C e 12 horas de fotoperíodo. Sementes germinadas foram contadas após 24h, 48h, 72h, 96h e 120h. Valores de velocidade de germinação foram calculados de acordo com Mourão Júnior & Souza Filho (2010).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram comparados através programa SISVAR, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisarmos os resultados obtidos, observou-se que a solução do extrato etanólico das folhas de baru reduziram a porcentagem de germinação de sementes de repolho (28% de inibição) (Gráfico 1) se comparado a testemunha, porém esse efeito não foi observado em sementes de alface (0% de inibição) (Gráfico 2), também comparado a testemunha. Já as sementes de tomate (100% de inibição) (Gráfico 3) não conseguiram germinar, ou seja, o extrato inibiu completamente a germinação, enquanto que a testemunha germinou quase 90%. Durante o processo de germinação, substâncias alelopáticas, vindas com a água, podem ser absorvidas pela semente, e esses

compostos são capazes de inibir ou retardar a multiplicação ou crescimento das células, podendo assim retardar a germinação (Gonzalez et al, 2002).

Segundo Ferreira & Áquila (2000) a sensibilidade do crescimento da plântula é menor aos aleloquímicos do que a da germinação, apesar disso, trabalhar com sementes é mais viável e mais simples do que com planta adulta, sendo que as substâncias alopáticas podem permitir que a semente germine ou não. Conforme Alves et al (2011), muitos autores apontam inconvenientes dos bioensaios da germinação. Dentre eles podemos destacar: controlar a temperatura, utilizar duas ou três folhas de papel de filtro no fundo da placa, uso de películas plásticas com o intuito de vedar as tampas para evitar que a placa não perca água em excesso e a escolha de sementes de boa qualidade.

FIGURA 1: Porcentagem de germinação de sementes de repolho em relação ao tempo.

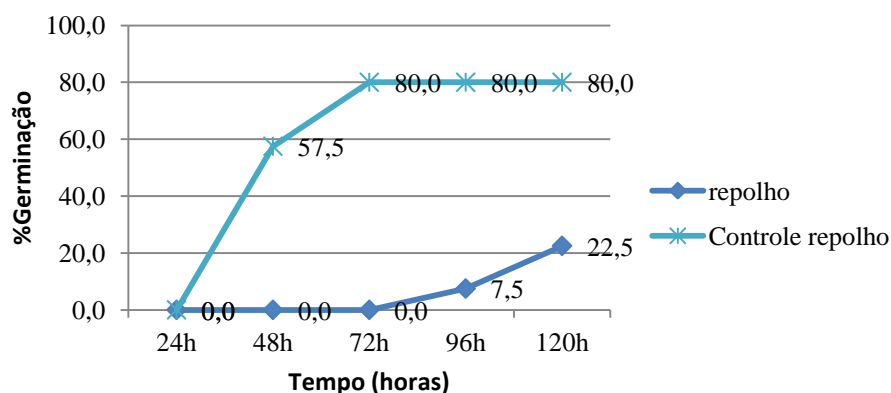


FIGURA 2: Porcentagem de germinação de sementes de alface em relação ao tempo.

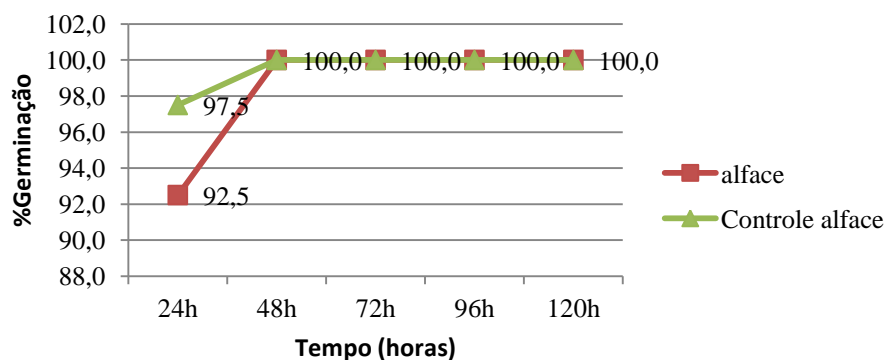
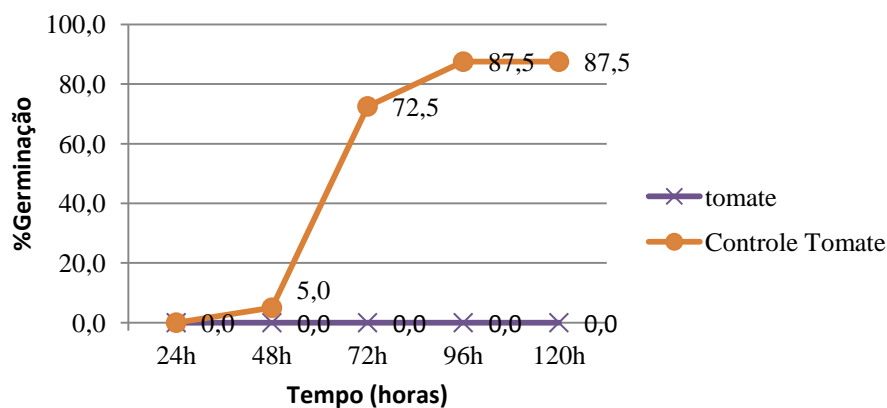




FIGURA 3: Porcentagem de germinação de sementes de tomate em relação ao tempo.



Ao estudar a alelopatia, a germinabilidade é um índice bastante usado, conquanto não demonstre outros aspectos do processo de germinação (Chiapuso et al. 1997). As alterações no padrão de germinação podem resultar de diversos efeitos causados em nível primário, como por exemplo alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, no funcionamento de mensageiros secundários, na respiração, devido ao sequestro de oxigênio, na conformação de enzimas e receptores, ou ainda pela combinação destes fatores (Ferreira & Áquila, 2000).

Com relação à velocidade de germinação (Tabela 1), a solução do extrato etanólico das folhas de baru não causaram atraso no processo germinativo das sementes de alface, sendo que o efeito mais significativo ocorreu no repolho e tomate, sendo que neste último não chegou a haver germinação. Nem sempre o efeito alelopático ocorre em relação à germinabilidade, mas sim sobre a velocidade de germinação ou outro parâmetro do processo, por isso, todos os dias, a germinação deve ser acompanhada ao longo do tempo (Ferreira & Áquila, 2000).

TABELA 1: Índice de velocidade de germinação (IVG)

	Alface	Tomate	Repolho
Controle	98,3 ± 3,3 A	29,2 ± 5,9 A	27,1 ± 3,9 A
Tratamento	96,3 ± 4,8 A	0,0 ± 0,0 B	4,9 ± 3,0 B

Letras iguais indicam equivalência estatística pelo SISVAR.

Ambos ao nível 5% de significância.

Cumpramos ressaltar que a determinação do efeito do extrato sob determinado tipo de espécie será vista pela sensibilidade da planta teste em relação ao aleloquímico, sendo que esse composto poderá agir tanto inibindo ou estimulando a germinação (Almeida, 1988). No presente estudo, a extração foi feita usando-se etanol, o que resultou na extração de compostos polares (por exemplo, compostos fenólicos), devido ao tipo de extração do solvente.

Em estudos com o cumaru, também pertencente à família Fabaceae, típico da região nordeste, considerada uma planta medicinal, que é muito rica em cumarina, composto fenólico inibidor natural do processo de germinação, mostrou-se que os extratos aquosos e metanólicos das sementes apresentaram alterações na germinação e, principalmente, no desenvolvimento de plântulas de alface e de rabanete, explicados pela presença de cumarina (Felix et al, 2007).

## CONCLUSÕES

Conforme os resultados expostos pode-se concluir que o extrato etanólico das folhas de *Dipteryx alata* Vogel apresenta um potencial alelopático, por causar efeitos inibitórios, confirmados pela redução ou inibição da germinação e, também pelo atraso da germinação nas sementes de tomate e repolho, e com menos significância nas sementes de alface.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Capes pela concessão de bolsa e pelo auxílio financeiro, que são de extrema importância para a execução das pesquisas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, LMS; Machado, R.B.; Marinho-Filho, J. A diversidade biológica do Cerrado. In: L.M.S. Aguiar & A. Camargo (eds.). Ecologia e caracterização do Cerrado. 2004; 19-42.

Almeida, FS. Alelopatia e as plantas. Londrina: IAPAR, 68p, 1988.

Alves, LL; Oliveira, PVA; França, SC; Alves, PLC; Pereira, PS. Atividade alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. *Rev. Bras. Plantas Med.* 2011; 13(3): 328-336.

Chiapusso G; Sánchez AM; Reigosa MJ; González L; Pellissier F. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? *Journal of Chemical Ecology.* 1997; 23: 2445-2453.

Felix RAZ; Ono EO; Silva CP; Rodrigues JD; Pieri C. Efeitos alelopáticos da *Amburana cearensis* L. (Fr.All.) AC Smith na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e de rabanete (*Raphanus sativus* L.). *Rev. Bras. Biociências.* 2007; 5: 138-140.

Fontenele, AF; Carvalho, U; Melo, VMM.; Braga, LM.; Aguiar, A.; Matos, F.J.A. Avaliação da Toxicidade de Extratos de Plantas Medicinais através de Bioensaios com *Artemia salina* Leach. *Ciê. Cult.* 1988; 40: 1109-11.

Ferreira AG; Áquila MEA. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 2000; 12: 175-204.

Gomes VM, Mosqueda Mi, Blancolabra A, Xavier-Filho J. Vicilins storage proteins from *Vign aunguiculata* (legume) seeds inhibit fungal growth. *Journal Science Food Chemistry.* 1997; 45: 4110-4115.

Gonzales L, Souto XC, Reigosa MJ. Allelopathic effects of *Acacia melanoxylon* R. Br. *Phyllodes* during their decomposition. *For. Ecol.* 1995; 77: 53-63.

Gonzalez HR. et al. Efectos alelopáticos de restos de diferentes espécies de plantas medicinales sobre laalbahaca (*Ocimum basilicum* L.) em condiciones de laboratório. *Rev. Cub. Plantas Med.* 2002; 7: 67-72.

Klink CA, Machado RB. Conservation of Brazilian Cerrado. *Conserv. Biology.* 2005; 19: 707-713.

Matos FJA, Craveiro AA, Alencar JW. Ácidos graxos de algumas oleaginosas tropicais em ocorrência no Nordeste do Brasil. *Quím. Nova.* 1992; 15: 181-5.

Medeiros ARM & Lucchesi AA. Efeitos alelopáticos de ervilhaca (*Vicia sativa*) sobre a alface em testes de laboratório. *Pesq. Agropec. Bras.* 1993; 28: 9-14.

Mittermeier RA, Fonseca GAB, Rylands AB, Brandon K. A brief history of biodiversity conservation in Brazil. *Conserv. Biology.* 2005; 3: 601-611.

Mourao Junior M. & Souza Filho APS. Diferenças no padrão da atividade alelopática em espécies da família Leguminosae. *Planta daninha.* 2010; 28: 939-951.

Molisch H. Der Einfluse inerpflanze auf die ändere allelopathie. Berlin: Jena Ficher, 1937, 30 p.

Rice EL. Allelopathy effects on nitrogen cycling. In: RIZVI, J.H. & RIZVI, H. *Allelopathy: Basic and applied aspects.* London, Chapman & Hall. 1992; 31-58.

Rizvi, SJH, Haque H, Singh VK, Rizvi VA. A discipline called allelopathy. In: Rizvi, S. J. H.; Rizvi, V. (Ed.) *Allelopathy: basic and applied aspects.* London: Chapman & Hall, 1992; 1-10.

Sales MP, Gomes VM, Fernandes KVS, Xavier-Filho J. Chitin-binding proteins from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1996; 19: 319-326.

Sales MP, Pimenta PP, Paes NS, Grossi-De-Sá, MF, Xavier-Filho J. Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structures of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2001; 34: 27-34.

Silva JF, Fariñas M.R, Felfili JM, Kli CA. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. *J. Biogeog.* 2006; 33: 536-548.

Sousa AGO, Fernandes DC, Alves AM, Freitas JB, Naves MMV. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. *Food Res. Int.* 2011; 44: 827- 834.

Takemoto E, Okada IA, Garbelotti ML. Tavares, M.; Aued-Pimentel, S. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipterix alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, Estado de Goiás. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* 2001; 60: 113-117.

Tokarnia CH, Dobereiner J, Peixoto PV. Plantas tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro: Helianthus; 2000.

Waller GR, Feug MC, Fujii Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soilsecondary metabolites. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) Principles and practices in plant ecology. 1999; 75-98.

## CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos para os fenóis totais e atividade antioxidante indicam que os compostos secundários concentram-se preferencialmente nos extrato polar (etanólico) das folhas de *Dipteryx alata* Vogel, provavelmente tendo como constituintes polifenóis. Por isso, os testes de quelação e inibição da tirosinase foram realizados somente neste extrato, que demonstrou possuir capacidade de quelação dos íons cobre insignificante e certa capacidade de inibir a tirosinase nos testes in vitro por espectrofotometria.

Devido a grande necessidade de novas substâncias despigmentantes, que realmente sejam eficazes e não tragam tantos efeitos nocivos à saúde, é muito interessante estudar novas substâncias obtidas a partir da exploração de plantas do cerrado brasileiro, como o baru, uma vez que é composto por grande biodiversidade vegetal, com o objetivo de nomear plantas que desenvolvam em potencial atividades inibidoras da enzima tirosinase, que possam substituir efetivamente os compostos sintéticos encontrados no mercado.

Por se tratar de um extrato bruto etanólico, existem inúmeras substâncias que podem ser responsáveis por tal capacidade, por isso, os resultados descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos dos compostos presentes no extrato etanólico, com a intenção de isolar e identificar as substâncias responsáveis pela ação antioxidante e inibidora da tirosinase presentes no baru. Tal extrato pode se tratar de um interessantes candidato para a avaliação de ensaios biológicos mais complexos, tais como toxicidade in vitro, culturas de melanócitos e, eventualmente, testes em humanos em ensaios in vivo.

Conforme os resultados obtidos para alelopatia, pode-se concluir que o extrato etanólico das folhas de *Dipteryx alata* Vogel apresenta um potencial alelopático, por causar efeitos inibitórios, confirmados pela redução ou inibição da germinação e, também pelo atraso da germinação significativo nas sementes de tomate e repolho, e com menos significância nas sementes de alface.